

## 2022 年【全國科學探究競賽-這樣教我就懂】

### 海洋科學組 成果報告表單

**題目名稱：**發光細菌來源及探討漁獲處理方式對其生長之影響

#### 一、摘要

我們將採集到的發光細菌 ( Photobacterium ) 塗抹在超市取得的肉魚表面，接著模擬漁獲處理方式如水洗、冷藏及冷凍等各種處理，以探討影響其生長的因素。經過三天後，放置於冷凍及冷藏的培養基菌落數下降，故可得出溫度為影響發光細菌生長的最主要因素。此外，我們將肉魚不同的組織如魚肉、魚皮、魚鰭、魚骨等的萃取液作為 LB 培養基的成分，測試其培養發光細菌的可行性。

#### 二、探究題目與動機

有鑑於高中的課程中對於細菌的介紹並不是很詳細，導致高中生們對相關領域的資訊感到陌生，因此我們想透過本次實驗幫助學生們對細菌有更深入的认识。此外，我們發現國內關於發光細菌的研究不多，且發光細菌來源不穩定，因此我們選定發光細菌為探究主題來做更廣泛且深入的研究，不過它發光的特性使其分辨容易，不需透過儀器加以辨識，此為尋找發光細菌來源的有利因素。除了尋找發光細菌的來源之外，我們也欲藉由這次的研究找出能簡單培養發光細菌的方式，所以我們在實驗中也利用魚類身上各部位的萃取液來製作培養基，我們好奇以這些容易取得的材料及簡單的方式製作出培養基是否可行。

#### 三、探究目的與假設

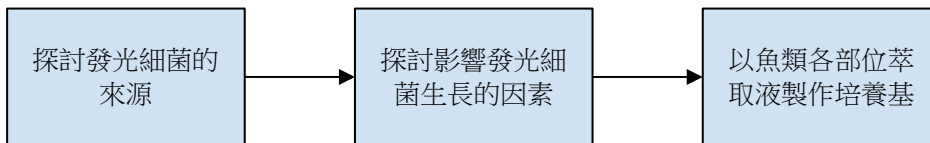
##### (一) 研究目的

- 一、研究發光細菌的來源
- 二、探討影響發光細菌的生長的因素
- 三、探討魚類各部位的萃取液是否能作為培養基的成分
- 四、研究能簡易製作出固態及液態培養基的方法

## (二) 實驗假設

- 一、在釣客的漁獲上有較高機率發現發光細菌
- 二、影響發光細菌生長的因素為溫度及清理方式
- 三、魚皮萃取液製作之培養基養分最足、效果最佳

## (三) 研究流程



## 四、探究方法與驗證步驟

### 一、第一階段：發光細菌的採集與培養

至新竹及苗栗的漁港採集發光細菌，採集統整表如表(一)所示，最後我們僅在南寮漁港釣客的漁獲上發現發光細菌。當日我們在南寮採集的魚種為沙梭。

	第一次採集	第二次採集	第三次採集	第四次採集
地點	南寮漁港	南寮漁港、香山濕地、海山漁港	南寮漁港、海山漁港	苗栗後龍外埔漁港
來源	(1)魚市場 (2)水產店 (3)釣客	(1)魚市場 (2)香山濕地 (3)釣客 (4)定置漁場	(1)魚市場 (2)釣客 (3)定置漁場	(1)魚市場攤販 (2)釣客
魚獲種類	(1)各式魚類 (2)蝦 (3)透抽	(1)各式魚類 (2)蝦 (3)透抽 (4)寄居蟹及貝類	(1)各式魚類	(1)各式魚類
樣本數	90 管	60 管	45 管	10 管

表(一)採集統整表

### 二、第二階段：探討影響發光細菌生長的因素

多次的採集中，只有釣客剛釣上來的新鮮漁獲才能採得發光細菌，在水產店和魚市場皆未發現，這勾起我們對影響發光細菌生長之因素的好奇，初步推測其原因是水產店和魚市場已經對漁獲進行處理，在詢問店家的處理方式後，我們設計第二階段的實驗。

### (一)實驗步驟

1. 將含有發光細菌之液態培養基倒於超市的帶皮肉魚上
2. 常溫放置約半天後，以常溫為對照組，水洗、冷藏、冷凍三種方式為實驗組對魚進行處理。水洗的處理方式為利用清水沖洗魚體表面，再放置常溫下；冷藏為放置在冰箱的冷藏櫃，溫度約為 5°C；冷凍為放置在冰箱的冷凍櫃，溫度約為-4°C。
3. 依實驗一的採集和稀釋步驟，將塗抹在肉魚身上的發光菌接種於固態 LB 培養基中。
4. 培養一天後，利用手機 (感光度為 10000) 分別拍下各組在暗室中的發光情形，計算照片中的菌落數後，比較影響程度之差異。



圖 1 一個明顯亮點計為一個菌落，以此為例，菌落數為 4

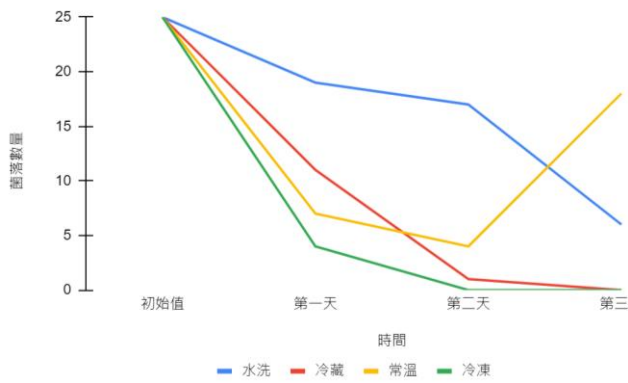
### (二)實驗結果

因我們用等量的採集液塗抹至培養基，此菌落數量圖可得知其菌落密度之趨勢。而從圖 2 的數據可知，除了在常溫狀況下第二天時發光細菌的菌落密度有稍微回升外，其他組都呈現下降的趨勢。其中，冷藏及冷凍於第三天觀測時歸零，冷凍下降的幅度最劇烈，其次是冷藏。我們共做了四組實驗，其餘結果之趨勢圖均與圖 2 雷同 (如圖 3)。

變因	水洗	冷藏	常溫	冷凍
初始值	25	25	25	25
第一天	19	11	7	4
第二天	17	1	4	0
第三天	6	0	18	0

表(一) 第一組實驗的發光細菌菌落數量變化統計表

探討漁獲處理方式對發光細菌生長之影響 第一組實驗



探討漁獲處理方式對發光細菌生長之影響 第二組實驗

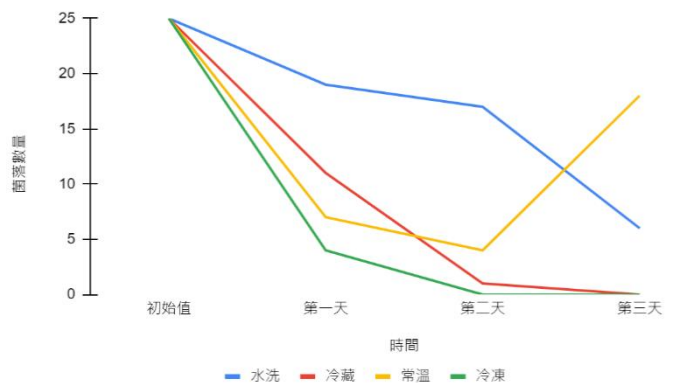


圖 2 (左)、圖 3 (右) 實驗的發光細菌菌落數量變化折線圖

### 三、第三階段：利用魚類不同組織的萃取液製作培養基

在此實驗中，我們利用魚類不同部位的魚蛋白萃取液分別製作固態及液態培養基。我們第一次製作了固態培養基，第二次則是製作液態培養基。

#### (一)實驗步驟

1. 將魚類的魚肉、魚皮、魚骨、魚鰭分離。
2. 取定量的魚肉、魚皮、魚骨、魚鰭，並加水配製成 1 比 1 的比例。
3. 將燒杯放置在加熱板上以 160RPM、攝氏 100 度加熱約 15 分鐘後，利用紗布過濾並收集濾液。
4. 將魚類各部位的萃取液配製培養基(固態及液態)，使其佔培養基 10%的成分比例。

#### (二)實驗結果

各固態及液態培養基上皆未出現發光細菌。

## 四、討論

### (一)較有利於發光細菌生存在的環境

由第二階段的實驗結果可推斷溫度為明顯影響發光細菌生長的因素，在低溫的環境下發光細菌的生長期較短，無法順利存活；反之，常溫的環境較有利於發光細菌生存。

### (二)實驗過程中其他可能影響發光細菌生長的因素

1. 空氣環境

液態培養基需放置在振盪箱培養，且承裝培養基的燒瓶或試管的管口不適宜太窄，讓其接觸氧的面積增加，並將棉球輕輕蓋住管口，使培養液接觸到的氧氣充足。

## 2. 水分及滲透壓

發光細菌為海水菌，因此調配培養基時須注意鹽度，使發光細菌適於生長，而根據我們所閱讀的文獻，最適合發光細菌的鹽度介於 2.5~3.5%。

## 3. 溫度

將細菌培養在液態培養基後，放置在震盪箱時需要設定適合其生長的溫度，故我們將震盪培養箱的溫度設定於 25-30 度間。若要將固態培養基長期保存，則需將其放於冷藏，使雜菌不易生長。

### (三) 萃取液製作的培養基中無法培養出發光細菌的原因

我們推測新鮮魚體表面含有使發光細菌附生的條件。無法成功培養的原因可能為魚皮的養分與魚體本身不同，亦有可能是提供發光細菌生長所需的養分位於魚體體表面的黏液中，而我們從超市取得的魚類則已經過初步處理，體表上幾乎無法發現黏液，導致取得的萃取液無法成功培育發光細菌。此外，亦有可能是因為自製培養基中魚類萃取液的濃度不足而導致細菌養分不足而沒辦法生長。但上述推測仍需要透過下一階段的實驗加以驗證，因此我們下階段的實驗會抽換 LB 培養基中的成分，以找出影響發光細菌無法在我們自製的培養基上生存的原因；我們將抽換的成分包含牛肉蛋白萃取物與酵母等。

## 五、結論與生活應用

### (一) 結論

- 一、釣客剛釣上岸的新鮮漁獲有較高機率發現發光細菌，而在其他地點和來源中，皆未採集到發光細菌。
- 二、在「探討影響發光細菌生長之因素」中，處理漁獲的方式以溫度因素對發光細菌的生長影響最大，低溫能在數日內，使發光細菌的菌落數顯著下降。
- 三、魚組織的萃取液製成的培養基無法培養出發光細菌。

### (二) 生活應用

- 一、發光細菌因會發光的特性使其辨別容易，而我們也找到了他的來源，使其的取得變得容

易許多，故可以成為國中小學生在細菌領域的良好教材。

二、發光細菌在環境方面可用於毒性檢驗，以手機的高感光鏡頭即可快速辨別發光細菌的發光程度，用以檢驗環境中的污染。

三、發光細菌相較於其他菌種相對安全許多，目前尚未出現因接觸此菌引發疾病的病例，若正確使用不會對人體的健康造成危害，故適合用於教學及檢驗。

#### 參考資料

1. 王彥鈞、徐代明、胡弘毅(2021)。採集發光細菌檢測水質中塑膠微粒之影響。
2. 陳映蓉、黃汝涓、謝怡臻 (2013)。亮不亮有關係—海洋污染物對發光菌之影響。
3. 周曉慧(2003)。台灣北部沿岸海域中發光細菌表型特性及親緣關係之探討。國立台灣大學海洋研究所。
4. 揭維邦(1994)。海洋生物附生性發光細菌之研究。國立中山大學海洋生物研究所。
5. 張淳淳(2016)。發光細菌在毒性試驗的應用。科學 Online。
6. Xiaoyan Y.Ma, Xiaochang C.Wang, Huu HaoNgo, WenshanGuo, Maoni N.Wu, NaWang (2013). Bioassay based luminescent bacteria: Interferences, improvements, and applications. Science of The Total Environment, Volumes 468–469, 15 January 2014, Pages 1-11.
7. Mauro Mecozzi, Eva Pietrantonio, Vito Di Noto, Zsuzsa Papai (2004). The humin structure of mucilage aggregates in the Adriatic and Tyrrhenian seas: hypothesis about the reasonable causes of mucilage formation. Volume 95, Issues 3–4, 1 June 2005, Pages 255-269.